

## **ANNEXE 2 : Méthode Communautaire pour la détermination du $\Delta$ 9-THC**

*(Annexe du Règlement (CE) no 796/2004 de la Commission du 21 avril 2004 portant modalités d'application de la conditionnalité, de la modulation et du système intégré de gestion et de contrôle prévus par le règlement (CE) no 1782/2003 du Conseil du 29 septembre 2003 établissant des règles communes pour les régimes de soutien direct dans le cadre de la politique agricole commune et établissant certains régimes de soutien en faveur des agriculteurs).*

### **MÉTHODE COMMUNAUTAIRE POUR LA DÉTERMINATION QUANTITATIVE DU DELTA-9-TÉTRAHYDROCANNABINOL (9-THC) DES VARIÉTÉS DE CHANVRE**

#### **1. Champ et domaine d'application**

La méthode sert à déterminer la teneur en  $\Delta$ 9-tétrahydrocannabinol (ci-après «THC») des variétés de chanvre (*Cannabis sativa L.*). Selon le cas, elle est appliquée suivant une procédure A ou une procédure B, décrites ci-après. La méthode se fonde sur la détermination quantitative par chromatographie en phase gazeuse (CPG) du  $\Delta$ 9-THC, après extraction par un solvant approprié.

##### 1.1. Procédure A

La procédure A est à utiliser pour les contrôles de la production prévus à l'article 52, paragraphe 1, du règlement (CE) n 1782/2003 et à l'article 26, paragraphe 2, point a), du présent règlement.

##### 1.2. Procédure B

La procédure B est à utiliser dans les cas visés à l'article 52, paragraphe 2, du règlement (CE) no 1782/2003 et à l'article 33, paragraphe 4, du présent règlement.

#### **2. Échantillonnage**

##### 2.1. Prélèvements

a) Procédure A: dans une population sur pied d'une variété de chanvre donnée, on prélève sur chaque plante sélectionnée un échantillon de 30 cm contenant au moins une inflorescence femelle. Le prélèvement s'effectue au cours de la période comprise entre le vingtième jour suivant le début et le dixième jour suivant la fin de la floraison, pendant la journée, selon un parcours systématique permettant une collecte représentative de la parcelle, en excluant les bordures. L'État membre peut autoriser le prélèvement d'échantillons au cours de la période comprise entre le début de la floraison et le vingtième jour suivant le début de la floraison, à condition de veiller à ce que, pour chaque variété cultivée, d'autres prélèvements d'échantillons représentatifs soient effectués, selon les règles décrites ci-dessus, au cours de la période comprise entre le vingtième jour suivant le début et le dixième jour suivant la fin de la floraison.

b) Procédure B: dans une population sur pied d'une variété de chanvre donnée, on prélève le tiers supérieur de chaque plante sélectionnée. Le prélèvement s'effectue au cours des dix jours suivant la fin de la floraison, pendant la journée, selon un parcours systématique permettant une collecte représentative de la parcelle et excluant les bordures. Dans le cas des variétés dioïques, seules les plantes femelles font l'objet de prélèvements.

##### 2.2. Taille de l'échantillon

Procédure A: pour chaque parcelle, l'échantillon est constitué des prélèvements réalisés sur 50 plantes.

Procédure B: pour chaque parcelle, l'échantillon est constitué des prélèvements réalisés sur 200 plantes.

Chaque échantillon est placé, sans le tasser, dans un sac de toile ou de papier, puis adressé au laboratoire d'analyse. L'État membre peut prévoir le prélèvement d'un second échantillon, aux fins d'une éventuelle contre-analyse, qui est conservé soit par le producteur, soit par l'organisme responsable de l'analyse.

##### 2.3. Séchage et stockage de l'échantillon

Le séchage des échantillons est entrepris le plus rapidement possible et en tout cas dans les 48 heures, par toute méthode impliquant une température inférieure à 70 °C. Les échantillons doivent être séchés jusqu'à ce qu'ils atteignent un poids constant et un taux d'humidité compris entre 8 et 13 %. Les échantillons secs sont conservés non tassés à l'abri de la lumière et à une température inférieure à 25 °C.

#### **3. Détermination du contenu en THC**

##### 3.1. Préparation de l'échantillon d'analyse

Les échantillons secs sont débarrassés des tiges et des graines de plus de 2 mm, puis ils sont broyés jusqu'à l'obtention d'une poudre demi-fine (tamis à mailles de 1 mm). Cette poudre peut être conservée pendant 10 semaines, au sec et à l'abri de la lumière, à une température inférieure à 25 °C.

### 3.2. Réactifs et solution d'extraction

#### Réactifs

- $\Delta^9$ -tétrahydrocannabinol chromatographiquement pur.
- Squalane chromatographiquement pur comme étalon interne.

#### Solution d'extraction

- 35 mg de squalane pour 100 ml d'hexane.

### 3.3. Extraction du $\Delta^9$ -THC

On pèse 100 mg d'échantillon d'analyse en poudre et on les introduit dans un tube de centrifugeuse, puis on ajoute 5 ml de solution d'extraction contenant le témoin interne. On plonge le tout pendant 20 minutes dans un bain à ultrasons. Après centrifugation pendant 5 minutes à 3 000 tours/mn, on prélève le soluté de THC surnageant. On injecte ce dernier dans le chromatographe et on procède à l'analyse quantitative.

### 3.4. Chromatographie en phase gazeuse

#### a) Instruments

- Chromatographe en phase gazeuse muni d'un détecteur à ionisation à flamme et d'un injecteur avec ou sans diviseur.
- Colonne permettant une bonne séparation des cannabinoïdes, telle qu'une colonne capillaire en verre de 25 m de long et 0,22 mm de diamètre imprégnée d'une phase apolaire à 5 % de phényl-méthyl-siloxane.

#### b) Gammes d'étalonnage

Au moins 3 points pour la procédure A et 5 points pour la procédure B, y compris les points 0,04 et 0,50 mg/ml de  $\Delta^9$ -THC en solution d'extraction.

#### c) Conditions expérimentales

Les conditions suivantes sont données à titre d'exemple pour la colonne visée au point a):

- température du four: 260 °C,
- température de l'injecteur: 300 °C,
- température du détecteur: 300 °C.

#### d) Volume injecté: 1 $\mu$ l

## 4. Résultats

Les résultats sont exprimés avec deux décimales, en grammes de  $\Delta^9$ -THC pour 100 grammes d'échantillon d'analyse, séché jusqu'à poids constant. Ils sont affectés d'une tolérance de 0,03 g pour 100 g.

— Procédure A: le résultat correspond à une détermination par échantillon d'analyse. Toutefois, si le résultat ainsi obtenu est supérieur à la limite prévue à l'article 52, paragraphe 1, du règlement (CE) no 1782/2003, une deuxième détermination est effectuée par échantillon d'analyse et le résultat retenu correspond à la moyenne de ces deux déterminations.

— Procédure B: le résultat correspond à la moyenne de deux déterminations par échantillon d'analyse.